

多囊卵巢综合征患者血浆 $TNF\alpha$ 、sTNFR2 水平 与胰岛素抵抗的相关性

王竹晨¹, 顾熊飞², 杨冬梓¹, 邝健全¹

(中山大学 1. 附属第二医院妇产科, 广东 广州 510120; 2. 生物化学教研室 广东 广州 510080)

摘要:【目的】探讨血浆肿瘤坏死因子 α ($TNF\alpha$)、可溶性肿瘤坏死因子受体 II(sTNFR2)与多囊卵巢综合征(PCOS)患者胰岛素抵抗和血清雄激素(T)水平的相互关系。【方法】PCOS 患者和对照者根据体重指数(BMI)分为 PCOS 肥胖组(21 例)、PCOS 非肥胖组(25 例)、肥胖对照组和非肥胖对照组,各 25 例,采用 ELISA 法测定血浆 $TNF\alpha$ 、sTNFR2 水平,化学发光法测定血清性激素 6 项,已糖激酶终点法测定血清葡萄糖浓度,时间分辨免疫分析法测定血清胰岛素浓度,按 Cederholm 的方法计算胰岛素敏感指数(ISI)。【结果】① PCOS 肥胖组血浆 $TNF\alpha$ 和 sTNFR2 水平及 PCOS 非肥胖组血浆 sTNFR2 水平均较非肥胖对照组明显升高,且以肥胖者升高更为明显。② 血浆 $TNF\alpha$ 与其 ISI 在 PCOS 肥胖组和肥胖对照组均呈负相关($P < 0.05$)。③ 血浆 sTNFR2 与其 ISI 在 PCOS 肥胖组、PCOS 非肥胖组和肥胖对照组均呈负相关($P < 0.05$)。【结论】PCOS 肥胖组血浆 $TNF\alpha$ 和 sTNFR2 水平及 PCOS 非肥胖组血浆 sTNFR2 水平均较非肥胖对照组明显升高,且与其 ISI 呈负相关,提示二者可能与 PCOS 患者发生胰岛素抵抗有关。

关键词: 多囊卵巢综合征; 肿瘤坏死因子 α ; 可溶性肿瘤坏死因子受体 II; 胰岛素抵抗

中图分类号: Q254; R711.75

文献标识码: A

文章编号: 1672-3554(2004)03-0268-04

Relationships Between $TNF\alpha$, sTNFR2 and Insulin Resistance in Polycystic Ovary Syndrome

WANG Zhu-chen¹, GU Xiong-fei², YANG Dong-zi¹, KUANG Jian-quan¹

(1. Department of Gynecology, The Second Affiliated Hospital, SUN Yat-sen University, Guangzhou 510120, China;

2. Department of Biochemistry, SUN Yat-sen University, Guangzhou 510080, China)

Abstract:【Objective】To investigate the relationships between plasma tumor necrosis factor alpha($TNF\alpha$), soluble tumor necrosis factor receptor II (sTNFR2) and insulin resistance (IR) and serum testosterone (T) in women with polycystic ovary syndrome (PCOS). 【Methods】Patients with PCOS and healthy controls were divided into the obese PCOS group (21 cases), the non-obese PCOS group, the obese control group and the non-obese control group (25 case) according to their body mass index (BMI). There were 25 cases in each group. The levels of $TNF\alpha$ and sTNFR2 in plasma were determined by ELISA, and the concentrations of insulin and sexual hormones in serum were assayed by chemiluminescent method and radioimmuno analysis respectively. Insulin sensitivity index (ISI) was calculated by Cederholm method. 【Results】① The levels of $TNF\alpha$ and sTNFR2 in the obese PCOS group and the level of sTNFR2 in the non-obese PCOS group were markedly higher than that in the non-obese control group. This disorder was quite serious in the obese PCOS women ($P < 0.05$). ② There were negative correlation be-

收稿日期: 2003-11-04

基金项目: 广东省卫生厅科研基金资助项目(2001189)

作者简介: 王竹晨(1973-), 女, 陕西西安人, 主治医师, 2002 年中山大学博士研究生毕业, 导师邝健全教授, 现在深圳市第二人民医院妇产科, 邮编: 518035.

tween TNF α and ISI in the obese PCOS group ($P < 0.05$) and the obese control group ($P < 0.05$). ③ There were negative correlation between sTNFR2 and ISI in the obese PCOS group ($P < 0.05$), the non obese PCOS group ($P < 0.05$) and the obese control group ($P < 0.05$). 【Conclusions】 The levels of TNF α and sTNFR2 in plasma in the obese PCOS group and the level of sTNFR2 in plasma in the non obese PCOS group increase markedly than the non-obese control group, and are negatively correlated with their ISI. It suggests that TNF α and sTNF2 might be the potential etiologic factors for IR in PCOS.

Key words: polycystic ovary syndrome; tumor necrosis factor alpha; soluble tumor necrosis factor receptor II; insulin resistance

[J SUN Yat-sen Univ (Med Sci),2004,25(3):268-271,280]

多囊卵巢综合征 (polycystic ovary syndrome, PCOS)是以胰岛素抵抗 (insulin resistance, IR)为特征的内分泌代谢疾患^[1]。肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor alpha, TNF α)是一个具有广泛生物活性的多肽,近年来大量的研究结果提示, TNF α 还可能是 IR 的重要发病机制之一。肥胖个体表达 TNF α 明显增多,且与其 IR 呈正相关;胰岛素增敏剂 Troglitazone 的应用可降低 TNF α 对脂肪细胞胰岛素信号通路的抑制作用^[2],有效恢复 PCOS 者的排卵功能,提示 TNF α 可能与 PCOS 者 IR 有关。对此国外已有少量研究, PCOS 者可溶性肿瘤坏死因子受体 II (soluble tumor necrosis factor receptor II, sTNFR2)的水平及其与 PCOS 者 IR 的关系等尚未见报道。我们对 PCOS 患者 TNF α 、sTNFR2 与其胰岛素敏感指数 (iInsulin sensitivity index, ISI)和血清雄激素 (testosterone, T)水平的相关性进行了研究,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 病例资料

收集中山大学附属第二医院妇科病房及门诊从 2000 年 1 月至 2002 年 1 月临床确诊为 PCOS 的患者 46 例,临床症状及内分泌检查均符合 PCOS 诊断。另收集了身体健康、月经正常的肥胖和非肥胖妇女各 25 例为对照组。上述各组均无其它急慢性疾病,近 3 月内无激素类药物服用史。PCOS 两组分别与其体重相匹配的对照组相比,年龄和体重指数无统计学差异。

1.2 方法

1.2.1 血清性激素 6 项水平测定 采用化学发光法。Bayer 公司 Automated Chemiluminescence System, 批内变异系数 $< 5.6\%$, 批间变异系数 $<$

1.2.2 血清葡萄糖浓度测定 采用已糖激酶终点法。试剂购自美国 TECO DIAGNOSTICS 公司,日本 7170A 型全自动生化分析仪测定,批内变异系数 $< 2.0\%$,批间变异系数 $< 3.0\%$ 。

1.2.3 血清胰岛素浓度的测定 采用时间分辨免疫分析法。Wallac 公司 AutoDELFLIA Automatic Immunoassay System, 批内变异系数 $< 4.6\%$,批间变异系数 $< 7.9\%$ 。

1.2.4 血浆 TNF 的测定 采用 ELISA。试剂盒购自 Roche 公司,批内变异系数 $< 5.8\%$,批间变异系数 $< 7.8\%$ 。

1.2.5 血浆 sTNFR2 的测定 采用 ELISA。试剂盒购自 Boehringer Mannheim,批内变异系数 $< 6\%$,批间变异系数 $< 12\%$ 。

1.3 统计学方法

应用方差分析和 q 检验进行统计学处理。直线相关和回归用于分析两变量是否确有直线相关关系。用 Cederholm 的方法计算 ISI^[3]。SIM = MCR / log MI (代谢清除率 / 一定胰岛素浓度); MCR = M / MG; MG (平均葡萄糖浓度) = $(G_0 + G_{30} + G_{60} + G_{120}) / 4$; MI (平均胰岛素浓度) = $(I_0 + I_{30} + I_{60} + I_{120}) / 4$; M = $75\ 000 / 120 + (G_0 - G_{120}) \times 1.15 \times 180 \times 0.19 \times \text{体质量} / 120$ 。

2 结果

2.1 各组血清 LH、FSH、LH/FSH 和 T 的比较

由表 1 可见, PCOS 肥胖组和 PCOS 非肥胖组血清 LH 水平及 LH/FSH 比值均显著高于其对照组 ($P < 0.001$); PCOS 非肥胖组的 LH 水平和 LH/FSH 比值较 PCOS 肥胖组升高更显著 ($P < 0.01$ 和 $P < 0.001$); FSH 水平在 4 组间无显著性差异 ($P > 0.05$); 血清 T 的水平在 PCOS 两组均显著高于对照组 ($P < 0.001$)。PCOS 两组之间的差异则无

统计学意义($P > 0.05$)。

表 1 各组血清 LH、FSH、LH/FSH 及 T 的浓度

Table 1 Serum LH, FSH, LH/FSH and T in patients of the four groups ($\bar{x} \pm s$)

Group	n	LH(U/L)	FSH(U/L)	LH/FSH	T(nmol/L)
Obese PCOS	21	15.82 ± 6.17 ^{1),3)}	6.94 ± 2.15	2.36 ± 0.32 ^{1),4)}	2.85 ± 0.84 ¹⁾
Obese control	25	5.50 ± 2.31	6.96 ± 2.25	0.79 ± 0.16	1.25 ± 0.27
Non obese PCOS	25	21.58 ± 7.47 ²⁾	6.81 ± 2.03	3.23 ± 0.84 ²⁾	2.83 ± 0.79 ²⁾
Non obese control	25	5.42 ± 2.08	7.08 ± 2.31	0.77 ± 0.18	1.03 ± 0.34

Compared with obese control group 1) $P < 0.001$; Compared with the non obese control group 2) $P < 0.001$; Compared with the non obese PCOS group 3) $P < 0.01$; Compared with the non obese PCOS group 4) $P < 0.01$

LH: luteinizing hormone; FSH: follicle stimulating hormone; T: testosterone

2.2 各组 ISI 的比较

由表 2 可见, PCOS 肥胖组和 PCOS 非肥胖组 ISI 与非肥胖对照组相比均显著降低 ($P < 0.001$ 和 $P < 0.005$), 且以 PCOS 肥胖组降低更为明显 ($P < 0.005$); 肥胖对照组与非肥胖对照组相比 ISI 亦明显降低 ($P < 0.001$), 与 PCOS 肥胖组相比则差异无显著性意义 ($P > 0.05$)。

2.3 各组血浆 TNF α 和 sTNFR2 的比较

由表 2 可见, PCOS 肥胖组血浆 TNF α 和 sTNFR2 水平及 PCOS 非肥胖组血浆 sTNFR2 水平均较非肥胖对照组明显升高, 且以肥胖者升高更为明显; PCOS 肥胖组和肥胖对照组相比, 血浆 TNF α 和 sTNFR2 的水平均无显著性差异 ($P > 0.05$)。

表 2 各组 ISI, 血浆 TNF α 和 sTNFR2 的水平

Table 2 ISI, plasma TNF α and sTNFR2 in patients of the four groups ($\bar{x} \pm s$)

Group	n	ISI	TNF α (pg/mL)	sTNFR2(pg/mL)
Obese PCOS	21	35.52 ± 14.81 ^{2),3)}	55.57 ± 17.47 ³⁾	163.81 ± 74.63 ^{2),3)}
Obese control	25	41.20 ± 15.95 ²⁾	53.24 ± 15.74 ¹⁾	162.72 ± 63.93 ²⁾
Non obese PCOS	25	52.04 ± 15.77 ¹⁾	45.12 ± 12.65	117.64 ± 37.59 ²⁾
Non obese control	25	64.08 ± 17.40	40.20 ± 13.24	78.96 ± 16.03

Compared with the non obese control group 1) $P < 0.005$, 2) $P < 0.001$; Compared with the non obese PCOS group 3) $P < 0.005$

2.4 各组血浆 TNF α 与 ISI 的线性相关性分析

PCOS 肥胖组血浆 TNF α 与其 ISI 呈负相关, 相关系数为 $r = -0.450$ ($P < 0.05$); 肥胖对照组血浆 TNF α 与其 ISI 也呈负相关, 相关系数为 $r = -0.440$ ($P < 0.05$); PCOS 非肥胖组和非肥胖对照组血浆 TNF α 与其 ISI 均无明显相关性 ($P > 0.05$)。

2.5 各组血浆 sTNFR2 与 ISI 的线性相关性分析

PCOS 肥胖组和非肥胖组血浆 sTNFR2 均与其 ISI 呈负相关, 相关系数分别为 $r = -0.447$ ($P < 0.05$) 和 $r = -0.399$ ($P < 0.05$); 肥胖对照组血浆 sTNFR2 也与其 ISI 呈负相关, 相关系数为 $r = -0.446$ ($P < 0.05$); 非肥胖对照组血浆 sTNFR2 与其 ISI 无明显相关性 ($P > 0.05$)。

2.6 各组血浆 TNF α 和 sTNFR2 与 T 水平的线性相关性分析

各组血浆 TNF α 和 sTNFR2 与其 T 水平均无明显相关性, P 值均大于 0.05。

3 讨论

3.1 PCOS 患者 IR 的特征和 TNF α 来源的多样性

IR 和 HI 是 PCOS 患者糖代谢异常的基本特征, 其中肥胖患者 HI 发生率约为 75%, 而非肥胖患者也达 30% 以上。我们的研究也提示肥胖和非肥胖的 PCOS 患者与非肥胖对照组比较均有不同程度的 IR, 且肥胖因素明显加重 IR, 与文献报道相符。我们对 PCOS 血浆 TNF α 进行测定, 结果表明 PCOS 肥胖组较非肥胖对照组明显升高, 与 Gonzalez 等^[4]的报道一致。我们对 sTNFR2 的研究首次提示 PCOS 两组均较非肥胖对照组明显升高, 且 PCOS 肥胖组升高更为明显。Hotamisligil 等^[5]也曾报道肥胖妇女肿瘤坏死因子受体 II (TNFR2) 在脂肪组织的表达较正常体重者升高约两倍, 外周血中 sTNFR2 则升高约 6 倍。这可能是由于当机体处于

肥胖状态时,脂肪细胞自分泌 TNF α 增多,并促使 sTNFR2 增加。Gonzalez^[4] 和 Sayin^[6] 等还发现 PCOS 非肥胖组血清 TNF α 也较非肥胖对照组明显升高,我们的结果虽提示有升高趋势,却无统计学意义,但 sTNFR2 的水平在 PCOS 非肥胖组有显著升高。PCOS 非肥胖组血浆 sTNFR2 水平升高的原因尚不清楚。TNF α 的来源具有多样性,除脂肪细胞和肌肉能分泌 TNF α 外,单核细胞和巨噬细胞也是机体 TNF α 的主要来源之一,作用广泛。近年对 PCOS 患者血浆 IGF-I 水平的系列研究发现,PCOS 非肥胖组血浆 IGF-I 水平较 PCOS 肥胖组和非肥胖对照组均测定增高;IGF-I 可直接刺激单核巨噬细胞分泌 TNF α 并使 sTNFR2 反馈性增加。这是否与 PCOS 非肥胖者 sTNFR2 水平升高有关尚需进一步的研究证实。

3.2 TNF α 与 IR 及其在 PCOS 发病机制中的可能作用

近年的大量研究证实 TNF α 与 IR 的发生有着密切的关系。例如肥胖者机体过度表达 TNF α 并与其 IR 程度呈正相关;TNF α 还可阻断体外培养的细胞及动物体内的胰岛素作用,发生 IR。TNF α 通过细胞表面受体:肿瘤坏死因子受体 I (TNFR1) 和 TNFR2 传导信号,其中 TNFR2(P75 TNFR) 主要与其代谢调节作用有关,两种受体都有可溶性形式,能够稳定 TNF α 的活性。TNF α 与细胞表面的相应受体结合后,可抑制胰岛素受体底物 I (insulin receptor substrate 1, IRS-1) 的酪氨酸磷酸化并可能作用于胰岛素生物效应中其它几个重要位点而 IR。Dunaif^[7] 和 Li 等^[8] 对 PCOS 患者成纤维细胞和骨骼肌细胞培养并研究了胰岛素受体及胰岛素受体后的信号传导,发现胰岛素受体丝氨酸磷酸化增加而酪氨酸磷酸化下降是 PCOS 外周组织 IR 的主要特征。此外,近年来的研究发现,胰岛素增敏剂 Troglitazone 的应用可降低 TNF α 对脂肪细胞胰岛素信号通路的抑制作用^[2],有效恢复 PCOS 者的排卵功能,提示 TNF α 可能与 PCOS 者 IR 有关。我们对 PCOS 患者血浆 TNF α 和 sTNFR2 与 ISI 的相关性分析表明,PCOS 肥胖组血浆 TNF α 和 sTNFR2 水平及 PCOS 非肥胖组血浆 sTNFR2 水平与其 ISI 呈负相关。Gonzalez 等^[4] 采用空腹胰岛素作为检测 IR 的指标,发现仅 PCOS 肥胖组血浆 TNF α 水平与其 IR 程度存在负相关,我们采用 OGTT 法,按 Cederholm 的方法计算 ISI,结果与之相似。但对 sTNFR2 的研究表明,血浆 sTNFR2 水平与其 ISI 在 PCOS 非

肥胖组也呈负相关,提示 TNF α 和 sTNFR2 可能与 PCOS 患者的 IR 有关。sTNFR 是跨膜 TNFR 通过蛋白水解而来的,其血浆水平稳定且易于测定。Fernandez-Real 等^[9] 报道肥胖患者血 sTNFR2 水平较正常对照者升高,并与 ISI 呈负相关,可作为肥胖患者 TNF α 相关 IR 的预测指标。我们的研究首次发现 sTNFR2 水平的升高在 PCOS 两组均较 TNF α 的升高更为显著并与其 ISI 呈负相关,能否作为 PCOS IR 危险因素的筛查指标尚需今后大样本的临床研究。

目前的多数研究认为,IR 是 PCOS 患者出现生殖功能障碍的重要原因之一,IR 状态下机体对血糖调节的代偿反应 HI 可加重 PCOS 患者高雄激素血症和卵泡发育障碍^[1]。我们的研究未发现 PCOS 患者血浆 TNF α 和 sTNFR2 与 T 水平存在相关性,提示 PCOS 患者高雄激素血症的发病十分复杂,尚需对其进行更深入的研究。

参考文献:

- [1] Goodarzi M O, Korenman S G. The importance of insulin resistance in polycystic ovary syndrome[J]. *Fertil Steril*, 2003, 80(2): 255-8.
- [2] Miles P D, Romeo O M, Higo K, et al. TNF-alpha-induced insulin resistance in vivo and its prevention by troglitazone[J]. *Diabetes*, 1997, 46(11): 1678-83.
- [3] Cederholm J, Wibell L. Insulin release and peripheral sensitivity at the oral glucose tolerance test[J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 1990, 10(2): 167-75.
- [4] Gonzalez F, Thusu K, Abdel-Rahman E, et al. Elevated serum levels of tumor necrosis factor alpha in normal weight with polycystic ovary syndrome[J]. *Metabolism*, 1999, 48(4): 437-41.
- [5] Hotamisligil G S, Arner P, Atkinson R L, et al. Differential regulation of the P80 TNF receptor in human obesity and insulin resistance[J]. *Diabetes*, 1997, 46(3): 451-5.
- [6] Sayin N C, Gucer F, Balkanli-Kaplan P, et al. Elevated serum TNF-alpha levels in normal-weight women with polycystic ovaries or the polycystic ovary syndrome[J]. *J Reprod Med*, 2003, 48(3): 165-70.
- [7] Dunaif A, Xia J, Book C B, et al. Excessive insulin receptor serine phosphorylation in cultured fibroblasts and in skeletal muscle[J]. *J Clin Invest*, 1995; 96(2): 801-10.

内感染发生的指标提供了一定的临床依据。虽然目前有许多预测早产的方法,并没有一种完全成熟,敏感而又特异的指标。本研究显示母体血清白细胞介素-6对预测早产有一定的作用,值得进一步探讨,扩大样本,进行动态监测,联合其他预测方法一起运用,也许对预测早产更有意义。

参考文献:

- [1] 曹泽毅. 中华妇产科学[M]. 北京:人民卫生出版社, 1996. 639-40.
- [2] 王重庆. 分子免疫学基础[M]. 北京:北京大学出版社, 1997. 198-200.
- [3] Dudley D J, Hunter C, Mitchell M D, et al. Clinical value of amniotic fluid interleukin-6 determinations in the management of preterm labour[J]. Br J Obstet Gynaecol, 1994, 101(7): 592-7.
- [4] Maeda K, Matsuzaki N, Fuke S, et al. Value of the maternal interleukin 6 level for determination of histologic chorioamnionitis in preterm delivery[J]. Gynecol Obstet Invest, 1997, 43(4): 225-31.
- [5] Menon R, Swan K F, Lyden T W, et al. Expression of inflammatory cytokines (interleukin-1 beta and interleukin-6) in amniochorionic membranes[J]. Am J Obstet Gynecol, 1995, 172(2 Pt 1): 493-500.
- [6] Romero R, Avila C, Santhanam U, et al. Amniotic fluid interleukin 6 in preterm labor. Association with infection [J]. J Clin Invest, 1990, 85(5): 1392-400.
- [7] Murtha A P, Greig P C, Jimmerson C E, et al. Maternal serum interleukin-6 concentrations in patients with preterm premature rupture of membranes and evidence of infection[J]. Am J Obstet Gynecol, 1996, 175(4 Pt 1): 966-9.
- [8] Fujisawa K, Nasu K, Arima K, et al. Production of interleukin (IL)-6 and IL-8 by a choriocarcinoma cell line [J]. Placenta, 2000, 21(4): 354-60.
- [9] 刘朝晖,董悦,郑淑蓉. 细胞因子(IL-1 β , IL-6, TNF)在早产宫内感染中的价值[J]. 中华围产医学杂志, 1998, 1(3): 131-4.

(编辑 张恩健)

(上接第 271 页 from page 271)

- [8] Li M, Youngren J F, Dunaif A, et al. Decreased insulin receptor (IR) autophosphorylation in fibroblasts from patients with PCOS: effects of serine kinase inhibitors and IR activators[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2002, 87(9): 4088-93.
- [9] Fernandez-Real J M, Broch M, Ricart W, et al. Plas-

ma levels of the soluble fraction of tumor necrosis factor receptor 2 and insulin resistance[J]. Diabetes, 1998, 47(11): 1757-62.

(编辑 张恩健)

中国学术期刊综合引证年度报告(2003) 显示本刊的影响因子为 0.4861

根据“中国学术期刊综合评价数据库(CAJCED2003)”5480种统计刊源120余万篇中论文引用参考文献及“中国期刊网”中心网站2002年全文下载记录的统计,并经综合评价分析,本刊2003年度文献计量指标及Web下载量报告如下:总被引频次404,影响因子0.4861,即年指标0.0679,他引率0.6832,被引半衰期3.5,2002载文量162,Web下载量6930。

(学 讯)